

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 31/01/2019.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



ANDRESSA ROSA PERIN LEITE

**ANÁLISE IN VITRO DA CITOTOXICIDADE E PRODUÇÃO DE MEDIADORES
INFLAMATÓRIOS POR QUERATINÓCITOS ESTIMULADOS POR ADESIVOS
PARA PRÓTESE**

Araraquara

2017



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



ANDRESSA ROSA PERIN LEITE

**ANÁLISE IN VITRO DA CITOTOXICIDADE E PRODUÇÃO DE MEDIADORES
INFLAMATÓRIOS POR QUERATINÓCITOS ESTIMULADOS POR ADESIVOS
PARA PRÓTESE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reabilitação Oral - Área de Prótese, da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista, para obtenção do título de Doutor em Reabilitação Oral.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Carolina Pero

Araraquara

2017

Leite, Andressa Rosa Perin

Análise in vitro da citotoxicidade e produção de mediadores inflamatórios por queratinócitos estimulados por adesivos para prótese / Andressa Rosa Perin Leite.-- Araraquara: [s.n.], 2017

70 f. ; 30 cm.

Tese (Doutorado em Prótese) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientadora: Profa. Dra. Ana Carolina Pero

1. Prótese total 2. Adesivos 3. Teste de materiais 4. Citocinas I. Título

ANDRESSA ROSA PERIN LEITE

**ANÁLISE IN VITRO DA CITOTOXICIDADE E PRODUÇÃO DE MEDIADORES
INFLAMATÓRIOS POR QUERATINÓCITOS ESTIMULADOS POR ADESIVOS
PARA PRÓTESE**

Comissão julgadora

Tese para obtenção do grau de Doutor

Presidente e Orientador: Prof^a. Dr^a. Ana Carolina Pero

2º Examinador: Prof. Dr. André Gustavo Paleari

3º Examinador: Prof^a. Dr^a. Karin Hermana Neppelenbroek

4º Examinador: Prof^a. Dr^a. João Neudenir Arioli Filho

5º Examinador: Prof. Dr. Marco Antonio Compagnoni

Araraquara, 31 de janeiro de 2017

DADOS CURRICULARES

ANDRESSA ROSA PERIN LEITE

Nascimento	06.10.1988 – Itararé/SP, Brasil
Filiação	José Luiz Perin Leite Zenite Aparecida Rosa Perin Leite
2006/2010	Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP
2011/2013	Curso de Pós-Graduação em Reabilitação Oral - Área de Prótese, nível de Mestrado, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP
2013/2017	Curso de Pós-Graduação em Reabilitação Oral - Área de Prótese, nível de Doutorado, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

Dedicatória

Dedico este trabalho,

à **Deus**.

Aos meus pais **José Luiz e Zenite**, por todo amor, dedicação e incentivo, tudo que sou hoje devo a vocês.

Ao meu irmão **Daniel**, parte fundamental da minha vida, meu melhor amigo.

À minha avó **Paulina**, por todo amor, preocupação e incentivo.

Aos meus avôs **Francisco e João** e à minha avó **Kota**, que teriam orgulho, se estivessem aqui, de ver o caminho que segui.

Todos meus **tios e primos** que sempre me incentivaram.

Às minhas amigas desde a infância **Camila, Karina, Laís e Natalia**, que apesar da distância a amizade e o carinho continuam.

À minha amiga **Mônica**, por todos esses anos que moramos juntas e por todos os momentos que passamos e a querida amiga **Jéssica**, por todos os momentos de descontração.

Às amigas que fiz na faculdade **Aline, Belisa, Sarah, Tarsila e Vivian**, com vocês passei anos inesquecíveis e aprendi muito com cada uma.

À toda a família do meu namorado Victor, que sempre me receberam com muito carinho. Em especial aos avós **Shigue e Fernando**, à minha sogra **Edna**, ao meu sogro **Tatsunobo**, meus cunhados **Sarah e Vinícius** e minha concunhada **Marcela**.

Ao meu amor, namorado, amigo e confidente **Victor**.

Agradecimentos Especiais

À minha querida orientadora **Prof. Dr. Ana Carolina**, pelos muitos ensinamentos, por estar sempre presente, pela contribuição para meu crescimento e amadurecimento pessoal e profissional.

Ao querido **Prof. Dr. Marco**, um exemplo de pesquisador, sempre muito atencioso e preocupado em nos fazer crescer.

Aos meus queridos amigos, **Danny e Gabi**, pela companhia de quase todos os dias, por compartilharem seus conhecimentos comigo, pela extrema disponibilidade em ajudar sempre que precisei. Obrigada por estarem sempre comigo e tornarem meus dias mais alegres.

Vou sentir muita saudade!

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ)**, pelo suporte financeiro (bolsa de doutorado e taxa de bancada #158672/2013-5), que tornou possível a realização deste trabalho.

Agradecimentos

À **Paula Aboud Barbugli**, técnica do laboratório de Cultivo Celular, por todo o conhecimento e contribuição para o desenvolvimento deste trabalho.

À aluna de doutorado **Kahena Soldati** pela disponibilidade e disposição em ajudar em parte da metodologia deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Carlos Rossa Júnior (FOAR-UNESP)** e ao **Prof. Dr. Rogério M. Castilho (University of Michigan)** por terem cedido as células NOK-SI que foram utilizadas neste trabalho.

A **Prof. Dr. Janaina Habib Jorge** pela contribuição na metodologia deste trabalho.

Ao técnico do Departamento de Química Orgânica **Alberto Camilo Alécio** pela contribuição em parte da metodologia deste trabalho.

Aos amigos do Grupo de Pesquisa e da Pós-graduação, **André, Norberto, Vivian, Priscila, Kássia e Fernanda Alves**, pela convivência, amizade, conselhos e ensinamentos.

Aos queridos professores da disciplina de Prótese total, **João, Kiko e Serginho** por todos esses anos de convivência, por todo conhecimento e experiências compartilhadas.

A **todos os professores** do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese da Faculdade de Odontologia de Araraquara, pela convivência, experiências compartilhadas e por todos os ensinamentos transmitidos ao longo desses anos.

A todos os **funcionários do Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese** da Faculdade de Odontologia de Araraquara.

A todos os **funcionários da Seção de Pós-Graduação**, pela atenção e ajuda sempre que precisei.

A **todos**, que de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho!

Vou levar um pouquinho de cada um de vocês comigo, no meu coração!

Muito Obrigada!

Leite ARP. Análise in vitro da citotoxicidade e produção de mediadores inflamatórios por queratinócitos estimulados por adesivos para prótese [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2017.

RESUMO

Subprodutos oriundos de adesivos utilizados para retenção e estabilidade de próteses totais podem atuar como irritantes quando em contato com a mucosa. O objetivo deste estudo foi avaliar a citotoxicidade e a produção de mediadores inflamatórios por queratinócitos estimulados por diferentes adesivos para próteses totais. Três adesivos disponíveis comercialmente foram testados (Ultra Corega creme, Corega pó Fixador Ultra e Corega fita adesiva). Foram obtidos extratos na concentração de 1% para os adesivos tipo creme, pó e fita. Queratinócitos gengivais humanos (NOK-SI) foram cultivados in vitro e expostos por 3, 6 e 24 horas aos extratos. Após este período, a citotoxicidade dos extratos foi avaliada pelo ensaio metil tetrazólio (MTT) e análise da integridade da membrana (liberação de LDH; Kit CytoTox-One) e pela análise da morfologia celular por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A produção das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α foi realizada por meio do ensaio Elisa. A presença de ácido maleico e formaldeído nos adesivos foi verificada por meio de cromatografia gasosa com detector de ionização de chamas. Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística realizada ao nível de significância de 5%. Os adesivos tipo creme (71,6% de viabilidade celular, ligeiramente citotóxico, $p=0,000$) e pó (75,7%, não citotóxico, $p=0,002$) alteraram significativamente a viabilidade celular quando comparados ao controle negativo no período 6 horas. Não foram observadas diferenças significativas entre os adesivos e o controle negativo ($p > 0,05$) na análise da integridade da membrana. A morfologia celular dos queratinócitos expostos aos extratos dos adesivos mostraram-se semelhantes ao controle negativo. Maior liberação da citocina IL-6 foi observada para os adesivos tipo creme e pó nos períodos 6 e 24h ($p < 0,05$). No período 3 horas, maior liberação de IL-1 β pôde ser observada para o adesivo fita ($p=0,016$). Foi detectada, em diferentes níveis, a presença de ácido maleico e formaldeído em todos os adesivos testados. Sendo assim, de acordo com as limitações do presente estudo, é possível concluir que a similaridade entre os resultados de citotoxicidade dos três adesivos avaliados e o controle negativo indicam que esses produtos parecem não apresentar citotoxicidade às células queratinócitos gengivais humanos, apesar de ter sido observado alteração na expressão de citocinas pró-inflamatórias.

Palavras-chave: Prótese total. Adesivos. Teste de materiais. Citocinas.

Leite ARP. In vitro analysis of cytotoxicity and production of inflammatory mediators by keratinocytes stimulated by denture adhesives [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2017.

ABSTRACT

Subproducts from denture adhesives used to improve retention and stability of these dentures, in contact with the oral mucosa, can act as an irritant. The purpose of this study was to evaluate the cytotoxicity and production of inflammatory mediators by keratinocytes stimulated by different denture adhesives. Three commercially available adhesives were tested (Ultra Corega cream, Corega powder Fixador Ultra and Corega pad). Extracts were obtained from the adhesive cream, powder and strip at 1% after 24 hours of exposure in DMEM culture medium. Human gingival keratinocytes (NOK-SI) were grown in vitro and exposed for 3, 6 and 24 hours to extracts. After this period, the cytotoxicity of the extracts was evaluated by methyl tetrazolium assay (MTT) and analysis of membrane integrity (LDH release; KIT Cytotox-One) and by analysis of cell morphology by scanning electron microscopy (SEM). It was also evaluated the production of IL-1, IL-6 and TNF- α using the Elisa assay. It was also evaluated the presence of maleic acid and formaldehyde in adhesives by means of Gas Chromatography and Flame Ionization Detector. The results were analyzed statistically with a significance level of 5%. Cream (71.6%, slightly cytotoxic, $p=0.000$) and powder denture adhesives (75.7%, non-cytotoxic, $p=0.002$) significantly altered cell viability when compared to the negative control at 6h. No significant differences were observed between the adhesives and the negative control ($p>0.05$) when the analysis of membrane integrity assay was performed. The cellular morphology of keratinocytes exposed to adhesive eluates was similar to control. Greater IL-6 cytokine release was observed for cream and powder denture adhesives at 6h and 24h ($p<0.05$). IL-1 β release from strip was higher at 3 hours when compared to the control ($p = 0.016$). The presence of maleic acid and formaldehyde was detected at different levels in all the adhesives tested. Within the limitations of the present study, it be concluded that the similarity between the results of cytotoxicity for the three denture adhesives tested and negative control indicates that these products do not appear to be cytotoxic to human oral keratinocytes, in spite of the changes on expression of pro-inflammatory cytokines.

Keywords: Denture complete. Adhesives. Materials Testing. Cytokines.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
3 PROPOSIÇÃO	46
3.1 Objetivos Específicos	46
4 MATERIAL E MÉTODO	47
4.1 Avaliação da Citotoxicidade de Extratos de Diferentes Adesivos para Prótese Total	47
4.1.1 Cultura e manutenção das células	47
4.1.2 Quantificação das células	47
4.1.3 Obtenção dos extratos	48
4.1.4 Avaliação quantitativa MTT	49
4.1.5 Análise da integridade da membrana	50
4.1.6 Avaliação da morfologia celular por MEV	51
4.2 Análise da Produção de Citocinas Pró-inflamatórias após Exposição aos Extratos dos Adesivos	52
4.3 Identificação de Ácido Maleico e Formaldeído nos Extratos dos Adesivos para Prótese	53
4.4 Análise dos Resultados	53
5 RESULTADOS	54
6 DISCUSSÃO	61
7 CONCLUSÃO	65
REFERÊNCIAS	66

1 INTRODUÇÃO

A confecção de próteses totais envolve uma série de procedimentos clínicos e laboratoriais para que se possa obter sucesso no tratamento e satisfação do paciente. Para garantir isso, o cirurgião-dentista deve estar atento a todas as etapas que envolvem a confecção da prótese, a fim de que próteses totais bem adaptadas possam garantir uma reabilitação funcional e estética, preservando as estruturas de suporte, além de proporcionar conforto aos seus usuários.

Dentre os objetivos a serem alcançados quando da confecção de uma prótese total convencional, a retenção e a estabilidade são aspectos de grande interesse por parte de seus usuários, uma vez que estão diretamente relacionados com o seu conforto e segurança⁶⁶. Desta forma, é muito importante garantir aos usuários destas próteses que suas necessidades psicológicas relacionadas à aceitação do tratamento sejam alcançadas.

Entre as alternativas de reabilitação do paciente desdentado, as próteses totais convencionais são financeiramente mais acessíveis quando comparadas as próteses implanto suportadas²². Entretanto, apesar de alguns estudos demonstrarem uma alta prevalência de pacientes satisfeitos com as próteses totais convencionais^{7,25}, diversas são as queixas relatadas pelos pacientes que fazem uso destas próteses, especialmente mandibulares, tais como falta de retenção, instabilidade, dificuldades de mastigação, baixa autoestima, redução da qualidade de vida, do convívio social e da satisfação^{26,50,68,73}. Sabe-se que os principais fatores que podem contribuir para a pobre retenção dessas próteses são o grau de reabsorção do osso alveolar e diminuição do fluxo salivar, além do fato de que as próteses mandibulares exigem um elevado controle do tônus muscular pelo paciente, o qual diminui com o avanço da idade^{8,9}. Por estes motivos, os agentes adesivos têm sido utilizados para otimizar a retenção das próteses totais por aumentar as propriedades adesivas e coesivas da saliva e a viscosidade do meio entre a prótese e sua área de assentamento, obliterando o espaço entre a base da prótese e a mucosa bucal²³. Além disso, os adesivos aumentam o coeficiente de tensão superficial do filme de saliva entre a prótese e a mucosa, proporcionando uma melhor distribuição das forças oclusais³⁴.

Desde o final do século XVIII os adesivos têm sido utilizados para melhorar a retenção das próteses, sendo que o primeiro relato científico sobre os adesivos ocorreu em 1935 pelo Council of Dental Materials da American Dental Association³⁴. Em 1939, um crescente aumento de usuários pôde ser observado, cerca de 15 milhões de pessoas já faziam

uso de fixadores para prótese^{34,61}. Sabe-se que 30% dos usuários de próteses totais usam ou já fizeram uso de adesivos, e que o número de usuários de adesivos varia entre 15 a 33% dos usuários de próteses e que no período de um ano foram vendidos nos Estados Unidos cerca de 55 milhões de unidades de adesivos para prótese, representando um valor superior a 220 milhões de dólares¹⁴. No Brasil não há dados referentes ao número de pacientes que utilizam esses produtos⁶⁰, mas um estudo recente constatou que 77,5% dos pacientes informaram que o adesivo não era necessário, 3,75% relataram não ter dinheiro para comprar o produto, e apenas 4% utilizavam esse tipo de produto regularmente⁶⁴.

A partir do surgimento desses produtos no mercado, por muito tempo os dentistas foram relutantes em indicá-los aos seus pacientes pelo fato de enxergá-los como um reflexo negativo de suas capacidades clínicas ou pela falta de experiência protética, além disso alguns acreditavam que estes produtos poderiam levar a efeitos indesejáveis como hiperplasias dos tecidos moles e reabsorção do rebordo alveolar^{7,22,25,26,68}. De fato, isso pode ser resultado de uma posição histórica tradicional, assumida e mantida ainda hoje por muitas Escolas de Odontologia, afirmando que os adesivos seriam usados unicamente em próteses mal confeccionadas pelos cirurgiões dentistas⁷⁴.

Por outro lado, há uma conduta que defende o uso de adesivos para facilitar procedimentos clínicos, melhorar a aceitação e a satisfação do paciente em relação à prótese, o que torna prudente a indicação destes produtos a usuários de próteses bem adaptadas, a fim de atender suas necessidades funcionais e psicológicas de retenção e estabilidade, o que poderia proporcionar seu melhor desempenho¹². Além disso, os adesivos também podem ser indicados para pacientes com fluxo salivar reduzido, pobre tonicidade muscular, deficiências neurológicas, melhorar a segurança para pessoas socialmente ativas, facilitar a adaptação de próteses novas e para aqueles que se submeteram a modificações cirúrgicas traumáticas^{12,33,34,74,78}. Entretanto, esses produtos tornam-se contraindicados em alguns casos, como em pós operatório de prótese total imediata, pois podem obliterar o alvéolo cirúrgico e impedir a formação de coágulo, em casos que as próteses totais estão insatisfatórias e também na presença de hiperplasias ou patologias da cavidade bucal³⁴.

Estudos demonstram que os adesivos podem beneficiar os usuários de próteses melhorando sua adaptação, conforto, função e capacidade mastigatória e o nível de confiança dos pacientes^{13,14,33}. Grasso et al.³³ afirmam que as vantagens relacionadas ao uso de adesivos para usuários de próteses totais incluem melhora na função, maior retenção e estabilidade, aumento na força de mordida incisal e sensação de conforto físico e psicológico para o paciente. Outras pesquisas revelaram melhora na eficiência mastigatória e na estabilidade de

próteses com o uso de adesivos e aumento da satisfação de seus usuários^{46,66}.

Como não existem evidências na literatura dos efeitos dos adesivos nos tecidos de suporte quando utilizados por períodos superiores a seis meses²⁷, recomenda-se que eles não devam ser utilizados sem orientação de um cirurgião-dentista, dessa forma consultas periódicas devem ser realizadas para avaliação das próteses e dos tecidos de suporte³⁴.

Na literatura ainda existem controvérsias com relação aos adesivos, como a quantidade insuficiente de evidências de que os adesivos podem melhorar a função mastigatória²⁷, e também quanto a sua influência na microbiota bucal^{44,51,60,62,67,70,84}.

Os componentes responsáveis pelas propriedades adesivas podem ser de origem vegetal (gomas de Karaya e Acácia) ou sintéticos (polímeros, como metilcelulose, hidroximetilcelulose, acrilamida e polivinil acético)²³. Também são adicionados aos adesivos agentes inativos para facilitar sua administração, como aromatizantes (óleo de hortelã), agentes umectantes (lauril sulfato de sódio, óleo mineral e vaselina), partículas de carga (óxido de magnésio, fosfato de sódio, silicato de cálcio) conservantes e corantes².

Determinar o comportamento biológico de materiais odontológicos é um aspecto de interesse para pesquisadores pois esses produtos entram em íntimo contato com a mucosa bucal. Além disso, substâncias liberadas na saliva, a partir desses produtos, poderiam causar reações adversas como vesículas, úlceras, sensação de queimação, irritação e vermelhidão da mucosa bucal^{54,57,85}. Assim, um adesivo considerado ideal não deve promover o aparecimento de reações adversas na mucosa bucal, não deve ser tóxico nem irritante e deve ser biocompatível².

No estudo de Ekstrand et al.²³, em 1993, uma determinação semiquantitativa de formaldeído presente em adesivos para prótese foi realizada e foi observado que quatro marcas comerciais de adesivos continham mais de 5 µL/ml de formaldeído, indicando que este componente foi adicionado intencionalmente aos produtos. Tem sido observado na literatura que este componente exibe um elevado nível de citotoxicidade e é responsável por inflamações alérgicas em pacientes que utilizam próteses totais^{23,42,69}. Al et al.³, em 2005, verificou por meio do ensaio MTT e difusão em ágar, que um dos adesivos testados apresentou efeito citotóxico severo em células da linhagem L-929, e indagou que essa observação possa ter ocorrido devido ao fato de que este era o único adesivo que apresentava em sua composição ácido maleico e metoxi etileno. A citotoxicidade do ácido maleico, para ser utilizado como irrigante de canal radicular, foi observado por Ballal et al.⁴ em fibroblastos de hamster (linhagem V79), por meios dos ensaios MTT, Pratt Willis e Clonogênico, sendo que este efeito foi dependente da concentração de ácido maleico utilizada. A

carboximetilcelulose, componente comumente encontrado em adesivos para prótese, é considerada fisiologicamente inerte⁸³. Alguns autores^{11,17,87} advertem que a identificação de certos componentes responsáveis pela citotoxicidade desses produtos são difíceis de serem efetuadas, tendo em vista que a composição e a concentração desses componentes são raramente disponíveis detalhadamente pelos fabricantes.

As células epiteliais bucais são as primeiras células a entrar em contato com os adesivos para prótese ou com substâncias liberadas durante sua solubilização. Por este motivo, os queratinócitos são células adequadas para avaliar a citotoxicidade desses produtos¹¹. Os queratinócitos possuem um papel central na indução da inflamação frente a estímulos nocivos, pois são responsáveis pela síntese de citocinas e mediadores inflamatórios em resposta a um estímulo e também em resposta a outros mediadores inflamatórios³⁶. Uma grande quantidade de citocinas é produzida por queratinócitos, entre elas as interleucinas pró-inflamatórias (IL-1 e IL-6) e o fator de necrose tumoral α (TNF- α)³⁶.

Considerando que a maioria dos adesivos testados em estudos de biocompatibilidade eram citotóxicos^{3,11,17,20,23,87} e que a literatura é relativamente escassa quanto à utilização de células epiteliais da mucosa bucal, especificamente queratinócitos¹¹, nos estudos de citotoxicidade relacionados aos adesivos para prótese, é de interesse investigar o comportamento biológico desses produtos sobre esse tipo celular. Além disso, ensaios que analisem outras funções celulares podem colaborar com informações importantes sobre esses materiais. Os autores não encontraram na literatura estudos sobre a expressão de citocinas pró-inflamatórias por queratinócitos após entrarem em contato com adesivos para prótese. A quantificação da liberação de citocinas locais são necessários para se adquirir conhecimento dos processos imunológicos e patológicos envolvidos nas reações inflamatórias. Outro fator de interesse é a investigação de possíveis componentes desses produtos que podem estar diretamente relacionados ao efeito citotóxico dos adesivos, como a liberação de formaldeído que foi demonstrada por alguns autores^{23,24}.

7 CONCLUSÃO

Dentro das limitações do presente estudo, foi possível concluir que:

1) Os extratos dos adesivos tipo creme (3 e 24h), pó (3, 6 e 24h) e fita (3, 6 e 24h) não apresentaram efeitos citotóxicos; somente para o ensaio MTT o adesivo tipo creme, no período 6 horas, apresentou-se ligeiramente citotóxico.

2) Maior liberação da citocina IL-6 foi observada para os adesivos tipo creme e pó nos períodos 6 e 24h. No período 3 horas, maior liberação de IL-1 β pôde ser observada para o adesivo fita.

3) Foi detectada, em diferentes níveis, a presença de ácido maleico e formaldeído nos adesivos testados.

REFERÊNCIAS

1. Abdelnabi MH, Swelem AA, Al-Dharrab AA. Influence of denture adhesives on occlusion and disocclusion times. *J Prosthet Dent.* 2016; 115(3): 306-12.
2. Adisman IK. The use of denture adhesives as an aid to denture treatment. *J Prosthet Dent.* 1989; 62(6): 711-5.
3. Al RH, Dahl JE, Morisbak E, Polyzois GL. Irritation and cytotoxic potential of denture adhesives. *Gerodontology.* 2005; 22(3): 177-83.
4. Ballal NV, Kundabala M, Bhat S, Rao N, Rao BS. A comparative in vitro evaluation of cytotoxic effects of EDTA and maleic acid: root canal irrigants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 108(4): 633-8.
5. Bartlett DW, Maggio B, Targett D, Fenlon MR, Thomas J. A preliminary investigation into the use of denture adhesives combined with dietary advice to improve diets in complete denture wearers. *J Dent.* 2013; 41(2): 143-7.
6. Berg E. A clinical comparison of four denture adhesives. *Int J Prosthodont.* 1991; 4(5): 449-56.
7. Berg E. Acceptance of full dentures. *Int Dent J.* 1993; 43(3 Suppl 1): 299-306.
8. Borges TeF, Mendes FA, de Oliveira TR, Gomes VL, do Prado CJ, das Neves FD. Mandibular overdentures with immediate loading: satisfaction and quality of life. *Int J Prosthodont.* 2011; 24(6): 534-9.
9. Budtz-Jørgensen E, Chung JP, Mojon P. Successful aging--the case for prosthetic therapy. *J Public Health Dent.* 2000; 60(4): 308-12.
10. Castilho RM, Squarize CH, Leelahavanichkul K, Zheng Y, Bugge T, Gutkind JS. Rac1 is required for epithelial stem cell function during dermal and oral mucosal wound healing but not for tissue homeostasis in mice. *PloS one.* 2010; 5(5): e10503.
11. Chen F, Wu T, Cheng X. Cytotoxic effects of denture adhesives on primary human oral keratinocytes, fibroblasts and permanent L929 cell lines. *Gerodontology.* 2014; 31(1): 4-10.
12. Chew CL, Boone ME, Swartz ML, Phillips RW. Denture adhesives: their effects on denture retention and stability. *J Dent.* 1985; 13(2): 152-9.
13. Coates AJ. Denture adhesives: a review. *Aust Prosthodont J.* 1995; 927-31.
14. Coates AJ. Usage of denture adhesives. *J Dent.* 2000; 28(2): 137-40.
15. Darwish M, Nassani MZ. Evaluation of the effect of denture adhesives on surface roughness of two chemically different denture base resins. *Eur J Dent.* 2016; 10(3): 321-6.
16. de Baat C, van't Hof M, van Zeghbroeck L, Ozcan M, Kalk W. An international multicenter study on the effectiveness of a denture adhesive in maxillary dentures using disposable gnathometers. *Clin Oral Investig.* 2007; 11(3): 237-43.
17. de Gomes PS, Figueiral MH, Fernandes MH, Scully C. Cytotoxicity of denture adhesives. *Clin Oral Investig.* 2011; 15(6): 885-93.
18. de Oliveira Junior NM, Rodriguez LS, Mendoza Marin DO, Paleari AG, Pero AC, Compagnoni MA. Masticatory performance of complete denture wearers after using two adhesives: a crossover randomized clinical trial. *J Prosthet Dent.* 2014; 112(5): 1182-7.

19. Delben JA, Zago CE, Tyhovych N, Duarte S, Vergani CE. Effect of atmospheric-pressure cold plasma on pathogenic oral biofilms and in vitro reconstituted oral epithelium. *PloS one*. 2016; 11(5): e0155427.
20. DeVengencie J, Ng MC, Ford P, Iacopino AM. In vitro evaluation of denture adhesives: possible efficacy of complex carbohydrates. *Int J Prosthodont*. 1997; 10(1): 61-72.
21. Dias Kde C, Barbugli PA, Vergani CE. Influence of different buffers (HEPES/MOPS) on keratinocyte cell viability and microbial growth. *J Microbiol Methods*. 2016; 125:40-2.
22. Doundoulakis JH, Eckert SE, Lindquist CC, Jeffcoat MK. The implant-supported overdenture as an alternative to the complete mandibular denture. *J Am Dent Assoc*. 2003; 134(11): 1455-8.
23. Ekstrand K, Hensten-Pettersen A, Kullmann A. Denture adhesives: cytotoxicity, microbial contamination, and formaldehyde content. *J Prosthet Dent*. 1993; 69(3): 314-7.
24. Ellis B, Al-Nakash S, Lamb DJ. The composition and rheology of denture adhesives. *J Dent*. 1980; 8(2): 109-18.
25. Ellis JS, Pelekis ND, Thomason JM. Conventional rehabilitation of edentulous patients: the impact on oral health-related quality of life and patient satisfaction. *J Prosthodont*. 2007; 16(1): 37-42.
26. Emami E, Heydecke G, Rompré PH, de Grandmont P, Feine JS. Impact of implant support for mandibular dentures on satisfaction, oral and general health-related quality of life: a meta-analysis of randomized-controlled trials. *Clin Oral Implants Res*. 2009; 20(6): 533-44.
27. Felton D, Cooper L, Duqum I, Minsley G, Guckes A, Haug S, et al. Evidence-based guidelines for the care and maintenance of complete dentures: a publication of the American College of Prosthodontists. *J Am Dent Assoc*. 2011; 142 Suppl:11S-20S.
28. Figueiral MH, Fonseca PA, Pereira-Leite C, Scully C. The effect of different adhesive materials on retention of maxillary complete dentures. *Int J Prosthodont*. 2011; 24(2): 175-7.
29. Gates WD, Goldschmidt M, Kramer D. Microbial contamination in four commercially available denture adhesives. *J Prosthet Dent*. 1994; 71(2): 154-8.
30. Ghandadi M, Sahebkar A. Curcumin: an effective inhibitor of interleukin-6. *Current pharmaceutical design*. 2016 [Epub ahead of print].
31. Gomes FI, Aragao MG, Barbosa FC, Bezerra MM, de Paulo Teixeira Pinto V, Chaves HV. Inflammatory cytokines interleukin-1beta and tumour necrosis factor-alpha - novel biomarkers for the detection of periodontal diseases: a literature review. *Journal of oral & maxillofacial research*. 2016; 7(2): e2.
32. Goncalves TM, Viu FC, Goncalves LM, Garcia RC. Denture adhesives improve mastication in denture wearers. *Int J Prosthodont*. 2014; 27(2): 140-6.
33. Grasso JE. Denture adhesives: changing attitudes. *J Am Dent Assoc*. 1996; 127(1): 90-6.
34. Grasso JE. Denture adhesives. *Dent Clin North Am*. 2004; 48(3): 721-33, vii.
35. Grasso JE, Rendell J, Gay T. Effect of denture adhesive on the retention and stability of maxillary dentures. *J Prosthet Dent*. 1994; 72(4): 399-405.
36. Grone A. Keratinocytes and cytokines. *Veterinary immunology and immunopathology*. 2002; 88(1-2): 1-12.
37. Harada-Hada K, Hong G, Abekura H, Murata H. Evaluation of the efficiency of denture cleaners for removing denture adhesives. *Gerodontology*. 2016; 33(4): 453-60.

38. Harada-Hada K, Mimura S, Hong G, Hashida T, Abekura H, Murata H, et al. Accelerating effects of cellulase in the removal of denture adhesives from acrylic denture bases. *J Prosthodont Res*. 2016 [Epub ahead of print].
39. Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermanns HM, Muller-Newen G, Schaper F. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *The Biochemical journal*. 2003; 374(Pt 1): 1-20.
40. International Organization for Standardization: ISO 10993-5:1999 (E) Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity, 2nd ed. Gèneve: ISO; 1999.
41. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ. Cytotoxicity of denture base resins: effect of water bath and microwave postpolymerization heat treatments. *Int J Prosthodont*. 2004; 17(3): 340-4.
42. Kallus T. Enhanced tissue response to denture base polymers in formaldehyde-sensitized guinea pigs. *J Prosthet Dent*. 1984; 52(2): 292-9.
43. Kelsey CC, Lang BR, Wang RF. Examining patients' responses about the effectiveness of five denture adhesive pastes. *J Am Dent Assoc*. 1997; 128(11): 1532-8.
44. Kim E, Driscoll CF, Minah GE. The effect of a denture adhesive on the colonization of *Candida* species in vivo. *J Prosthodont*. 2003; 12(3): 187-91.
45. Koronis S, Pizatos E, Polyzois G, Lagouvardos P. Clinical evaluation of three denture cushion adhesives by complete denture wearers. *Gerodontology*. 2012; 29(2): e161-9.
46. Kulak Y, Ozcan M, Arikan A. Subjective assessment by patients of the efficiency of two denture adhesive pastes. *J Prosthodont*. 2005; 14(4): 248-52.
47. Kwan Tat S, Padrines M, Theoleyre S, Heymann D, Fortun Y. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine & growth factor reviews*. 2004; 15(1): 49-60.
48. Lee Y, Ahn JS, Yi YA, Chung SH, Yoo YJ, Ju SW, et al. Cytotoxicity of four denture adhesives on human gingival fibroblast cells. *Acta Odontol Scand*. 2015; 73(2): 87-92.
49. Leite AR, Mendoza-Marin DO, Paleari AG, Rodriguez LS, Roccia AA, Policastro VB, et al. Crossover clinical trial of the influence of the use of adhesive on biofilm formation. *J Prosthet Dent*. 2014; 112(2): 349-56.
50. Leles CR, Nakaoka MM, Souza RFd, Compagnoni MA. Estudo retrospectivo dos fatores associados à longevidade de próteses totais. Parte II - Tempo de uso e estimativa de durabilidade. *PGR: Pós-Grad. Rev. Fac. Odontol.* . 1999; 249-56.
51. Makihira S, Nikawa H, Satonobu SV, Jin C, Hamada T. Growth of *Candida* species on commercial denture adhesives in vitro. *Int J Prosthodont*. 2001; 14(1): 48-52.
52. Mañes JF, Selva EJ, De-Barutell A, Bouazza K. Comparison of the retention strengths of three complete denture adhesives: an in vivo study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011; 16(1): e132-6.
53. Marin DO, Leite AR, Paleari AG, Rodriguez LS, Oliveira Junior NM, Pero AC, et al. Effect of a denture adhesive on the satisfaction and kinesiographic parameters of complete denture wearers: a cross-over randomized clinical trial. *Braz Dent J*. 2014; 25(5): 391-8.
54. Marin Zuluaga DJ, Gomez Velandia OC, Rueda Clauijo DM. Denture-related stomatitis managed with tissue conditioner and hard autopolymerising reline material. *Gerodontology*. 2011; 28(4): 258-63.
55. Moharamzadeh K, Van Noort R, Brook IM, Scutt AM. Cytotoxicity of resin monomers on human gingival fibroblasts and HaCaT keratinocytes. *Dent Mater*. 2007; 23(1): 40-4.

56. Munoz CA, Gendreau L, Shanga G, Magnuszewski T, Fernandez P, Durocher J. A clinical study to evaluate denture adhesive use in well-fitting dentures. *J Prosthodont.* 2012; 21(2): 123-9.
57. Mutluay MM, Oguz S, Floystrand F, Saxegaard E, Dogan A, Bek B, et al. A prospective study on the clinical performance of polysiloxane soft liners: one-year results. *Dent Mater J.* 2008; 27(3): 440-7.
58. Nicolas E, Veyrune JL, Lassauzay C. A six-month assessment of oral health-related quality of life of complete denture wearers using denture adhesive: a pilot study. *J Prosthodont.* 2010; 19(6): 443-8.
59. Nunes EM, Policastro VB, Scavassin PM, Leite AR, Mendoza Marin DO, Giro G, et al. Crossover clinical trial of different methods of removing a denture adhesive and the influence on the oral microbiota. *J Prosthet Dent.* 2016; 115(4): 462-8.
60. Oliveira MC, Oliveira VM, Vieira AC, Rambob I. In vivo assessment of the effect of an adhesive for complete dentures on colonisation of *Candida* species. *Gerodontology.* 2010; 27(4): 303-7.
61. Ozcan M, Kulak Y, Arikan A, Silahtar E. The attitude of complete denture wearers towards denture adhesives in Istanbul. *J Oral Rehabil.* 2004; 31(2): 131-4.
62. Ozkan YK, Uçankale M, Ozcan M, Uner N. Effect of denture adhesive on the microorganisms in vivo. *Gerodontology.* 2012; 29(1): 9-16.
63. Papadiochou S, Emmanouil I, Papadiochos I. Denture adhesives: a systematic review. *J Prosthet Dent.* 2015; 113(5): 391-7 e2.
64. Pero A, Paleari A, Rodriguez L, Leite A, Rocchia A, Compagnoni M. Avaliação subjetiva do uso de adesivos por portadores de próteses totais bimaxilares em uma população brasileira. *Rev Odontol UNESP.* 2012; 41(1): 38-42.
65. Polyzois G, Niarchou A, Ntala P, Pantopoulos A, Frangou M. The effect of immersion cleansers on gloss, colour and sorption of acetal denture base material. *Gerodontology.* 2013; 30(2): 150-6.
66. Psillakis JJ, Wright RF, Grbic JT, Lamster IB. In practice evaluation of a denture adhesive using a gnathometer. *J Prosthodont.* 2004; 13(4): 244-50.
67. Radford DR, Challacombe SJ, Walter JD. Denture plaque and adherence of *Candida albicans* to denture-base materials in vivo and in vitro. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1999; 10(1): 99-116.
68. Redford M, Drury TF, Kingman A, Brown LJ. Denture use and the technical quality of dental prostheses among persons 18-74 years of age: United States, 1988-1991. *J Dent Res.* 1996; 75 Spec No714-25.
69. Ruyter IE. Release of formaldehyde from denture base polymers. *Acta Odontol Scand.* 1980; 38(1): 17-27.
70. Sampaio-Maia B, Figueiral MH, Sousa-Rodrigues P, Fernandes MH, Scully C. The effect of denture adhesives on *Candida albicans* growth in vitro. *Gerodontology.* 2012; 29(2): e348-56.
71. Sato Y, Kaiba Y, Hayakawa I. Evaluation of denture retention and ease of removal from oral mucosa on a new gel-type denture adhesive. *Nihon Hotetsu Shika Gakkai Zasshi.* 2008; 52(2): 175-82.
72. Schmalz G, Schweikl H, Hiller KA. Release of prostaglandin E2, IL-6 and IL-8 from human oral epithelial culture models after exposure to compounds of dental materials. *European journal of oral sciences.* 2000; 108(5): 442-8.
73. Siadat H, Alikhasi M, Mirfazaelian A, Geramipanah F, Zaery F. Patient satisfaction with implant-retained mandibular overdentures: a retrospective study. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2008; 10(2): 93-8.

74. Slaughter A, Katz RV, Grasso JE. Professional attitudes toward denture adhesives: A Delphi technique survey of academic prosthodontists. *J Prosthet Dent.* 1999; 82(1): 80-9.
75. Soromou LW, Zhang Z, Li R, Chen N, Guo W, Huo M, et al. Regulation of inflammatory cytokines in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 murine macrophage by 7-O-methyl-naringenin. *Molecules.* 2012; 17(3): 3574-85.
76. Spenciere M, Zavanelli A, Carvalho Junior H, Zavanelli R. Impacto do uso de fita adesiva no grau de satisfação de pacientes institucionalizados e usuários de próteses totais convencionais. *Rev Odontol UNESP.* 2009; 38(6): 335-40.
77. Stafford GD, Russell C. Efficiency of denture adhesives and their possible influence on oral microorganisms. *J Dent Res.* 1971; 50(4): 832-6.
78. Sumita YI, Otomaru T, Taniguchi H. Effects of a denture adhesive in edentulous patients after maxillectomy. *Gerodontology.* 2012; 29(2): e645-9.
79. Tanaka MH, Univ Estadual Paulista A, Brasil, Alécio AC, Paulista UE, Flumignan DL, Paulista UE, et al. Inorganic elemental analysis and identification of residual monomers released from different glass ionomer cements in cell culture medium. *Rev Odontol UNESP.* 2013; 42(4): 273-82.
80. Tezvergil-Mutluay A, Carvalho RM, Pashley DH. Hyperzincemia from ingestion of denture adhesives. *J Prosthet Dent.* 2010; 103(6): 380-3.
81. Thein ZM, Samaranayake YH, Samaranayake LP. Effect of oral bacteria on growth and survival of *Candida albicans* biofilms. *Arch Oral Biol.* 2006; 51(8): 672-80.
82. Uysal H, Altay OT, Alparslan N, Bilge A. Comparison of four different denture cushion adhesives--a subjective study. *J Oral Rehabil.* 1998; 25(3): 209-13.
83. Vipond MN, Whawell SA, Scott-Coombes DM, Thompson JN, Dudley HA. Experimental adhesion prophylaxis with recombinant tissue plasminogen activator. *Annals of the Royal College of Surgeons of England.* 1994; 76(6): 412-5.
84. Webb BC, Thomas CJ, Willcox MD, Harty DW, Knox KW. *Candida*-associated denture stomatitis. Aetiology and management: a review. Part 1. Factors influencing distribution of *Candida* species in the oral cavity. *Aust Dent J.* 1998; 43(1): 45-50.
85. Zaki HS, Ketzan KJ, Carrau RL. Hypersensitivity of temporary soft denture liners: a clinical report. *J Prosthet Dent.* 1995; 73(1): 1-3.
86. Zavanelli RA, Magalhães JB, Guilherme AS, Melo LGNd, Cardoso LdC, Zavanelli AC. Impacto do uso de fita adesiva na qualidade de vida de pacientes institucionalizados e usuários de próteses totais convencionais. *Rev Odontol UNESP.* 2010; 39(5): 291-7.
87. Zhao K, Cheng XR, Chao YL, Li ZA, Han GL. Laboratory evaluation of a new denture adhesive. *Dent Mater.* 2004; 20(5): 419-24.

Não autorizo a reprodução deste trabalho até 31/01/2019
(Direitos de publicação reservados ao autor)

Araraquara, 31 de janeiro de 2017.

ANDRESSA ROSA PERIN LEITE